

学 位 論 文 要 旨

犬の腫瘍性疾患における血清フェリチンに関する研究
－臨床的有用性と慢性炎症に伴う変化について－

Study of the serum ferritin concentration in dogs with
neoplastic diseases: Clinical usefulness and change in
chronic inflammatory condition

近澤 征史朗

Seishiro CHIKAZAWA

平成 25 年度

2013

現代の少子高齢化社会はペットの存在意義を変化させ、ペットは家庭内でより家族の一員として大切に飼育されるようになった。ペットの健康に対する人々の意識の向上と共に獣医療は目覚ましく発展し、ペットの高齢化という新しい問題が浮き彫りとなった。ペットの平均寿命の延長は老齢疾患を増加させ、現在は腫瘍性疾患がペットの主な死亡原因の一つに数えられるようになった。今や腫瘍性疾患に対する診断・治療法の開発は獣医学臨床分野における重要な課題であると言える。

人医療では腫瘍性疾患の診断を補助する種々の血清学的マーカー（腫瘍マーカー）が存在し、人々の健康維持に多大な貢献をしている。一方、獣医療では臨床的に有用な腫瘍マーカーはほとんど見出されていないのが現状であり、自覚症状を発しない動物における腫瘍性疾患の早期発見は困難を極めることから、獣医療にこそ簡便に腫瘍の存在や動態を客観的に評価できる腫瘍マーカーの発見が望まれる。本研究は犬の血清フェリチン（Ferritin: 以下 Ft）の腫瘍マーカーとしての臨床的有用性を検証することを主な目的とした。

Ft は哺乳類の全ての細胞に存在する、H と L の 2 種類のサブユニットが 24 量体を構成する分子質量約 45 万の細胞内鉄貯蔵蛋白質である。Ft は血清中にも微量（ $< 1 \mu\text{g/ml}$ ）に存在し、そのレベルは生体内貯蔵鉄量を反映する他、人医療ではリンパ腫や前立腺癌などいくつかの腫瘍性疾患で異常高値を示すことが報告されている。一方、獣医療では腫瘍性疾患における血清 Ft の臨床的有用性を評価した報告は少なく、十分な検討が行われているとは言えない。そこで本研究では担癌犬の血清 Ft 濃度を基にその臨床応

用の可能性を探るとともに、現在も不明な点が多いとされる高 Ft 血症発生機序について検証した。本論文は以下の三章構成とする。

第一章 サンドイッチ ELISA 法を用いた犬の血清 Ft 濃度測定法

サンドイッチ ELISA 法を用いて犬の血清 Ft 濃度の Homologous assay 系を樹立した。測定にはウサギ抗犬心臓 Ft ポリクローナル抗体、標準蛋白質は精製犬心臓 Ft を使用し、その測定精度の検討および基準範囲の設定を行った。使用した抗体は免疫学的反応性が異なるとされる Ft の H と L 両サブユニットを認識し、測定系の添加回収試験、希釈試験、同時再現性試験はいずれも良好な成績を示したことから、本研究における犬の血清 Ft 濃度の定量法として信頼できると考え、以後の研究に使用した。

上記方法を用いて 163 頭の臨床的に健康な犬（年齢：範囲 1～16 歳齢、平均 4 歳齢、性別：雄 82 頭、雌 81 頭）の血清 Ft 濃度を測定した結果、平均値±標準偏差は 789 ± 284 ng/ml（範囲：261～1,889 ng/ml）であり、性、年齢、体重による明らかな差は認められなかった。従って、健常犬の血清 Ft 濃度の基準範囲を平均値±2×標準偏差で算出した 221～1,357 ng/ml とした。

第二章 担癌犬における血清 Ft 濃度とその臨床的有用性

2009 年 6 月から 2013 年 11 月までの期間に北里大学獣医学部附属小動物臨床センターに来院し、病理学的あるいは臨床病理学的に診断した担癌犬 224 例（癌腫：61 例、肉腫：51 例、造血器系腫瘍：67 例、その他悪性腫瘍：34 例、良性腫瘍：11 例）および非腫瘍性疾患罹患犬 58 例（炎症性疾患：30 例、免疫介在性疾患：28 例）における診断時の血清 Ft 濃度を測定した。犬の血清 Ft 濃度は様々な疾患で高値を示す例が存在し、良性腫瘍を除く各疾患

群において半数以上が基準上限値を上回ったことから、特定の腫瘍性疾患に対するマーカーとしての有用性は乏しいと考えられた。腫瘍別の検討では脾臓血管肉腫（11例）の全例で基準上限値を上回ったことから、本症における高 Ft 血症の存在が明らかになった。加えて脾臓血管肉腫では少数例ながら初期の臨床ステージでも高値を示したことから、早期発見が困難であるとされる本症の早期診断法への応用が期待できると思われた。

また、血清 Ft の推移が病態のモニタリングに応用可能かどうかを調べるために、高率に高 Ft 血症を生じるとされる犬の多中心型リンパ腫（7例）および組織球肉腫（4例）について、治療に伴う経時的な血清 Ft 濃度の変化を観察した。その結果、リンパ腫では病態の進行によって増減する傾向は認められるものの、ほとんどの例でリンパ腫が再燃した時点での上昇は認められなかった。一方、組織球肉腫では全例で治療後急激に低下し、その後疾患の再燃を認めた時点あるいはその直前に再び上昇した。従って、血清 Ft 濃度はリンパ腫では病態を強く反映しないと考えられたが、組織球肉腫では病態の進行を鋭敏に反映すると考えられたため、モニタリングへの応用が期待できると思われた。

高 Ft 血症の存在が予後因子となるかどうかを調べるため、4,000 ng/ml で分けた多中心型リンパ腫 18 例において治療後の生存期間を比較したところ、両者には有意な差が認められた。従って、著しい高 Ft 血症の存在は多中心型リンパ腫における予後不良因子であると考えられた。

第三章 高 Ft 血症の発生機序に関する考察

血清 Ft は様々な疾患に付随して非特異的に上昇するが、その機

序については不明な点が多く、過去に肝障害、腫瘍からの放出、炎症の関与が指摘されている。本章では高 Ft 血症の発生機序について臨床例、あるいは実験的炎症モデルを用いた検討を行った。前章で高 Ft 血症を高率に認めたリンパ腫（53 例）、脾臓血管肉腫（11 例）、組織球肉腫（8 例）それぞれの血清 Ft 濃度と血清 ALT 活性の関連性を調べたところ、全ての疾患で相関関係は認められなかった。また、血清と組織の Ft H/L サブユニット比を比較したところ、両者に明らかな類似性は認められなかった。従って、腫瘍性疾患における高 Ft 血症の主因は肝障害あるいは腫瘍からの放出ではないと考えられた。他の要因として慢性炎症に伴う長期的な鉄代謝異常が高 Ft 血症に関与するかどうか、健常犬を用いて検証した。健常ビーグル犬 5 頭を用い、局所的催炎症物質であるテレピン油を 3 日毎に 0.5 ml ずつ計 15 回背部皮下投与することで持続的な局所炎症を誘発し、血清 Ft 濃度の変化を経時的に調べた。その結果、血清 Ft 濃度はテレピン油投与初期に一過性に上昇した後に投与前のレベルまで減少し、その変化は生体内貯蔵鉄量の変化と一致した。従って、局所的な慢性炎症は持続的な高 Ft 血症を誘発しないことが分かった。

以上のことから、本研究によって犬の血清 Ft は、脾臓血管肉腫において高率に上昇すること、組織球肉腫において病態モニタリングの指標としての有用であること、多中心型リンパ腫の予後不良因子であること、実験的誘発局所の慢性炎症において異常高値を示さないことが明らかになった。これら成果は獣医療における新規腫瘍マーカーの可能性を示すと共に、高 Ft 血症の発生機序の解明に有益な情報を提供する。